

脂肪組織由来再生細胞 (adipose derived regenerative cells) を封入した人工神経は末梢神経再生を促進する

著者	岡本 駿郎
著者別表示	Okamoto Syunro
雑誌名	金沢大学十全医学会雑誌
巻	127
号	1
ページ	2-9
発行年	2018-03
URL	http://doi.org/10.24517/00051110



脂肪組織由来再生細胞 (adipose derived regenerative cells) を 封入した人工神経は末梢神経再生を促進する

金沢大学大学院医学系研究科機能再建学 (整形外科科学)

(主任:土屋 弘行 教授)

岡 本 駿 郎

近年は幹細胞を用いた人工神経の研究が進んでいる。今回我々は臨床応用を念頭に置き、脂肪組織由来再生細胞 (adipose derived regenerative cells, ADRCs) を封入した人工神経を作成し、その短期成績について検討した。体重2.5～3.0kgの日本白色家兎の右側の坐骨神経を切離し、15mmの欠損部を内径3.5mmの管腔物で架橋した。実験群は管腔物、封入物により分類し、I群はシリコンチューブと生理食塩水、II群は人工神経と生理食塩水、III群は人工神経とADRCs、IV群は自家神経移植群とした。各群5羽の計20羽を作成し、肉眼的評価、病理学的評価および電気生理学的評価を行った。肉眼的評価では全例に組織の連続性を認めたが、I群と比較しII, III, IV群では管腔内に組織が充満していた。病理学的評価では、I群と比較しII, III, IV群において髄鞘化の始まった線維像が認められ、特にIV群において顕著であった。また有髄線維数はIV, III, II, I群の順で多くなっており、各群間に有意差を認めた。電気生理学的評価ではIII群、IV群の成績が良好であったが、各群間には有意差を認めなかった。本研究の結果、ADRCsは神経再生を促進すると考えられ、今後さらに解析を進めることで臨床応用できる可能性があると考えられた。

Key words Adipose-derived regenerative cells, Artificial nerve graft, Peripheral nerve, Regeneration

緒 言

1972年にMillesiら¹⁾が自家神経移植術を報告した後、重度の外傷や悪性腫瘍切除後などに生じる末梢神経の欠損に対しては、自家神経移植術が広く行われるようになった。しかし、自家神経移植術は健全な神経を採取するため、神経を採取した部位に疼痛やしびれなどの愁訴が残ることや、再建できる神経のサイズに限界があることなどの問題点がある。これらの問題点を解決するため、Lundborgら²⁾は欠損部位を神経以外の管腔物で架橋し、神経の再生を誘導するtubulizationの原理を提唱した。その後現在に至るまで約半世紀にわたり、tubulizationの成績を向上させるために、管腔物の「材質」と管腔物内の「封入物」の2つの要素について多数の研究が行われてきた。

末梢神経の再生に際しては、シュワン細胞と呼ばれる細胞が重要な役割を担っていることが知られている。従ってシュワン細胞は管腔物内の「封入物」として理想的

な細胞だと考えられるが、十分な量のシュワン細胞を培養し確保することは現在も技術的に困難である。そこで、近年は各種の「幹細胞」にシュワン細胞としての機能を期待し、「封入物」として用いるという試みが行われるようになった。我々は幹細胞の中でも、脂肪組織由来再生細胞 (adipose-derived regenerative cells, ADRCs) に着目した。ADRCsは脂肪組織由来幹細胞 (adipose-derived stem cells, ADSCs) を含むヘテロな細胞群である。ADRCsは皮下脂肪組織から採取できるため、安全かつ簡便で豊富に採取することが可能であり、採取後に分化誘導等の操作を加えずとも十分量の幹細胞を確保できることが報告されている³⁾。また、自己由来の細胞であり免疫反応を生じないことや⁴⁾、体性幹細胞であることから倫理的なハードルが低いといった利点も持ち合わせている。

我々は臨床応用を念頭に置き、国内で唯一使用可能な人工神経であるナーブリッジ® (東洋紡株式会社、大阪) に、ADRCsを封入することを考案した。本研究の目的は、

平成29年11月21日受付、平成30年2月19日受理

Abbreviations: ADRCs, adipose-derived regenerative cells; ADSCs, adipose-derived stem cells; CMAP, compound muscle action potential; EGF, epidermal growth factor; PGA, polyglycolic acid; PLC, poly-ε-caprolactone; VEGF, vascular endothelial growth factor

我々が作成したハイブリッド型人工神経による末梢神経の再生について評価検討することである。

対象および方法

1. 研究デザイン

実験は金沢大学動物実験委員会の承認を受けて行った(承認番号: AP-153587)。また、実験動物に対する麻酔や手術操作、屠殺方法についてはIASP (Ethics Committee of the International Association for the Study of Pain) のガイドライン⁵⁾を遵守して行った。まず、塩酸メドミジン0.1mg (日本全薬工業, 郡山) とミダゾラム10mg (アステラス製薬, 東京) を左臀部に筋肉内注射し麻酔導入を行った後、ペントバルビタールナトリウム (共立製薬, 東京) を17%に希釈し、3.5ml/hrで経静脈投与して麻酔を維持した。実験に使用した家兎は、耳静脈よりソムノベンチル5mlを注射し屠殺した。

実験群は使用した管腔物、封入物によって4群に分類した。シリコンチューブ内に生理食塩水を充填した群をI群、ナーブリッジ[®]内に生理食塩水を充填した群をII群、ナーブリッジ[®]内にADRCsを封入した群をIII群、自家神経移植群をIV群とした。各群5羽のモデルを作成し、術後4, 8週時に肉眼的、病理学的および電気生理学的に評価を行った。なお、ナーブリッジ[®]はポリグリコール酸 (polyglycolic acid, PGA) からなる管腔物にコラーゲンを充填した人工神経である。

2. ADRCsの分離

ADRCsの分離はZukら³⁾の方法に従った。まず日本白色家兎の背部皮下から10gの脂肪組織を採取し、鋏で細片した。次に、0.12%コラゲナーゼ (和光純薬工業, 大阪) を加え、インキュベータ内にて37℃で45分間、細片した脂肪組織と反応させた。この間、15分毎に攪拌を行った。反応終了後、直ちにD-MEM (和光純薬工業, 大阪) を20ml加え、中和した。この溶液をFalcon[®]40μm セルストレーナー (コーニング, 東京) で濾過した後、1300回転、25℃で6分間遠心分離を行った。以上の操作で得られた沈殿物がADRCsであり、これをナーブリッジ内の封入物とした。また、ナーブリッジ内でのADRCsの保持性を高めるため、抽出したADRCsはアテロコラーゲン (高研, 東京) 0.2mlと混合して封入した。

3. 手術方法

体重2.5~3.0kgの日本白色家兎の右側の坐骨神経を展開した後、膝関節部より50mmの部位で坐骨神経を切断し、4群ともに欠損長が15mmになるように内径3.5mmの管腔物で架橋した。シリコンチューブおよびナーブリッジ[®]の長さは17mmとし、管腔両端より神経を1mmずつ引き込み、10-0ナイロン糸で両端を4針ずつ縫合固定した。IV群では右側の坐骨神経を15mm切除し、これを反転して縫合した。最後に殿筋筋膜と皮膚を6-0ナイロン糸で縫合し、手術を終了した。

4. 評価方法

a) 肉眼的評価

手術後4週時および8週時に再生組織の連続性や色調などについて肉眼的に評価した。

b) 病理学的評価

手術後8週時に屠殺し、再生組織を摘出した。再生組織中央横断面にHematoxylin-Eosin染色およびKlüver-Barrera染色を行い、有髄線維数および軸索径に関して、顕微鏡 (BZ-X700: キーエンス, 大阪)、画像解析ソフト (キーエンス, 大阪) を用いて解析した。有髄線維数は断面全体での線維数を測定した。神経線維径は伏見ら⁶⁾の報告を参考に単位面積あたり計100本の神経線維径を測定し、その平均値を算出した。また、再生組織内の新生血管についても評価を行った。

c) 電気生理学的評価

手術後8週時に再生組織を摘出する前に麻酔をかけ、前脛骨筋の複合筋活動電位 (compound muscle action potential, CMAP) を計測した。評価は遠位潜時および振幅の健側比を算出して行った。計測の際は神経縫合部から近位5mmの位置で電気刺激を加え、膝蓋骨から遠位50mmの位置にて導出した。

病理学的ならびに電気生理学的評価においてはSteel-Dwass法により有意水準5%で検定を行った。

成 績

a) 肉眼的評価

手術後4, 8週時を含めた全例において再生組織により欠損部の架橋が得られていた。なお4週時ではII, III群ともにナーブリッジ[®]は吸収されず残存していた (図1) が、8週時では完全に吸収され消失していた。また、8週時における再生組織はI群では単白色調で中央部が細くなっていたが、II, III, IV群においては赤みを帯びており、健常部と同等の太さとなっていた (図2)。

b) 病理学的評価

Hematoxylin-Eosin染色ではIV, III, II, I群の順に結合組織の増生ならび神経線維と考えられる同心円状の組織の再生が認められた。

また、III, IV群においては再生組織内に新生血管と考えられる管腔構造が散在していた (図3)。

Klüver-Barrer染色では神経線維、髄鞘が確認され、IV, III, II, I群の順に多く認められた。またIV, III, II, I群の順に神経線維が集簇する傾向を認め、IV群では均一な有髄神経が規則正しく配列していた (図4)。有髄線維数は、4週時でI群: 961 ± 364.5 (平均値 \pm 標準偏差) (本), II群: 1774 ± 405.3 , III群: 2053 ± 161.4 , IV群: 3354 ± 1322 , 8週時でI群: 1262 ± 569.6 , II群: 2743 ± 430.0 , III群: 3385 ± 414.9 , IV群: 5250 ± 1433 となっており、いずれの週数においてもIV, III, II, I群の順で有意に有髄線維数が多くなっていた ($p < 0.01$) (図5, 図6)。神経線維径は、4週時でI群: 3.04 ± 0.90 (μm), II群: 3.98 ± 1.34 , III群: 4.52 ± 1.38 ,

IV群： 10.42 ± 3.33 , 8週時でI群： 4.19 ± 1.42 , II群： 5.25 ± 1.73 , III群： 6.22 ± 1.94 , IV群： 11.20 ± 2.73 となっており, IV, III, II, I群の順に太くなっていたが, 各群間に有意差は認めなかった (図7, 図8).

c) 電気生理学的評価

遠位潜時の健側比はI群： 2.54 ± 0.98 , II群： 1.82 ± 0.55 , III群： 1.51 ± 0.67 , IV群： 1.11 ± 0.05 となっており, IV, III, II, I群の順に良好な結果を示したが, 各群間に有意差は認めなかった. 振幅の健側比はI群： 0.017 ± 0.006 , II群： 0.020 ± 0.015 , III群： 0.047 ± 0.027 , IV群： 0.033 ± 0.021 となっており, III, IV, II, I群の順に良好な結果を示したが各群間に有意差は認めなかった (図9, 図10).

考 察

本研究では臨床応用を念頭に置き, 実際に臨床で利用できるナーブリッジ®に, 幹細胞の中でも倫理的なハードルが比較的低いとされるADRCsを封入した人工神経を作成した. その結果, 我々の人工神経は自家神経移植群の成績には及ばなかったものの, シリコンチューブ単体群およびナーブリッジ単体群と比較し, より神経の再生を促す効果があったと考えられた. ナーブリッジ®に幹細胞を封入して作成した人工神経の報告はこれまでに存在せず, 本研究が初めての報告となる. 本研究の結果は幹細胞を付加することでナーブリッジ®の成績が向上

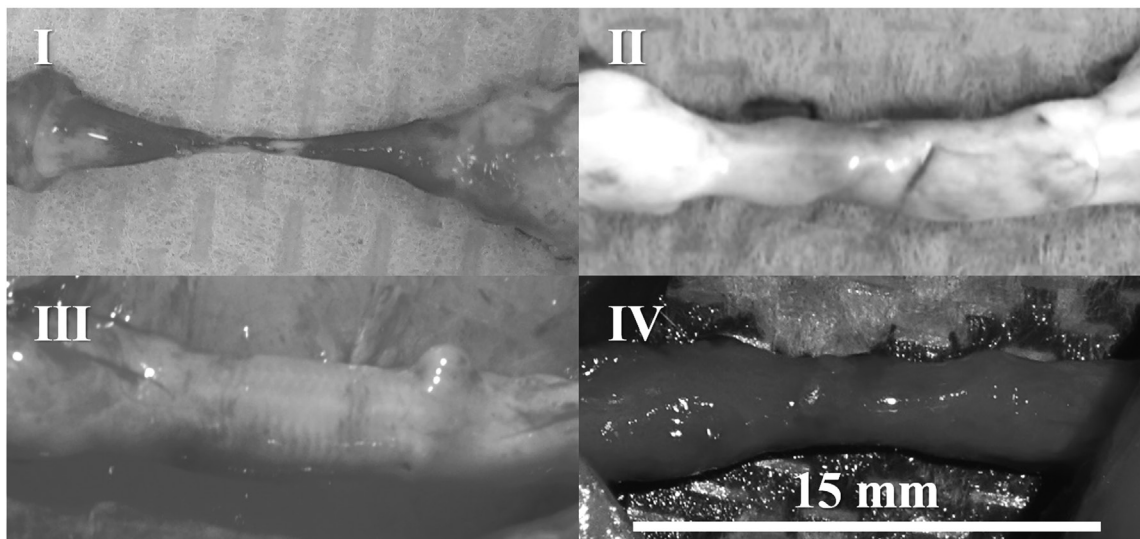


Fig. 1. Macroscopic findings after 4weeks

Regenerated nerve is barely concecutive in group I. Artificial nerve is left in group II and III.

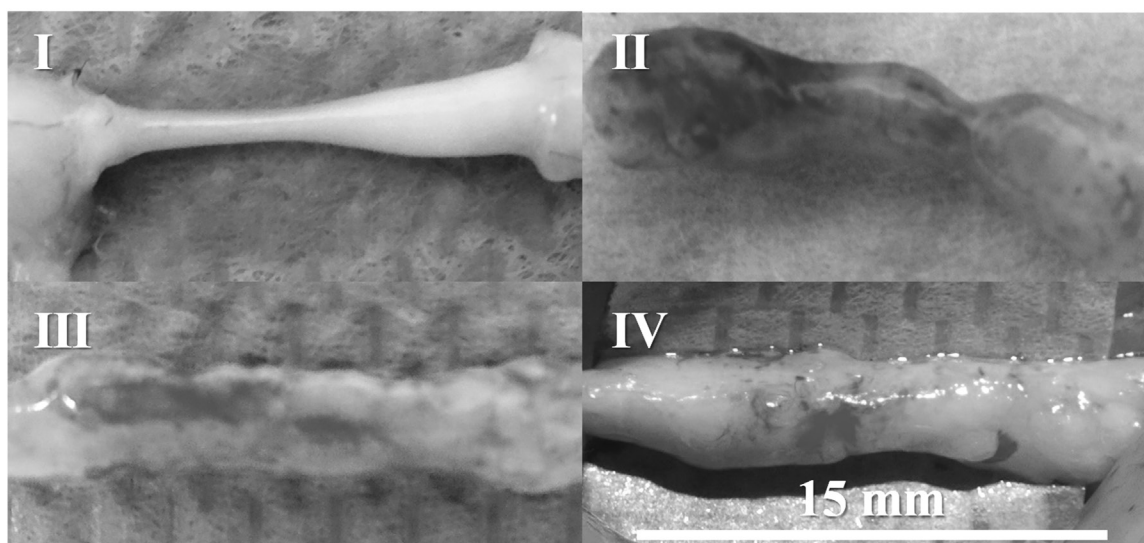


Fig. 2. Macroscopic findings after 8 weeks

Artificial nerve was absorbed and disappeared. Diameters of regenerated tissues were larger in group II, III and IV than I. Regenerated tissues were predominantly white color tone in group I, but intrusion of blood vessels was observed in group II and III.

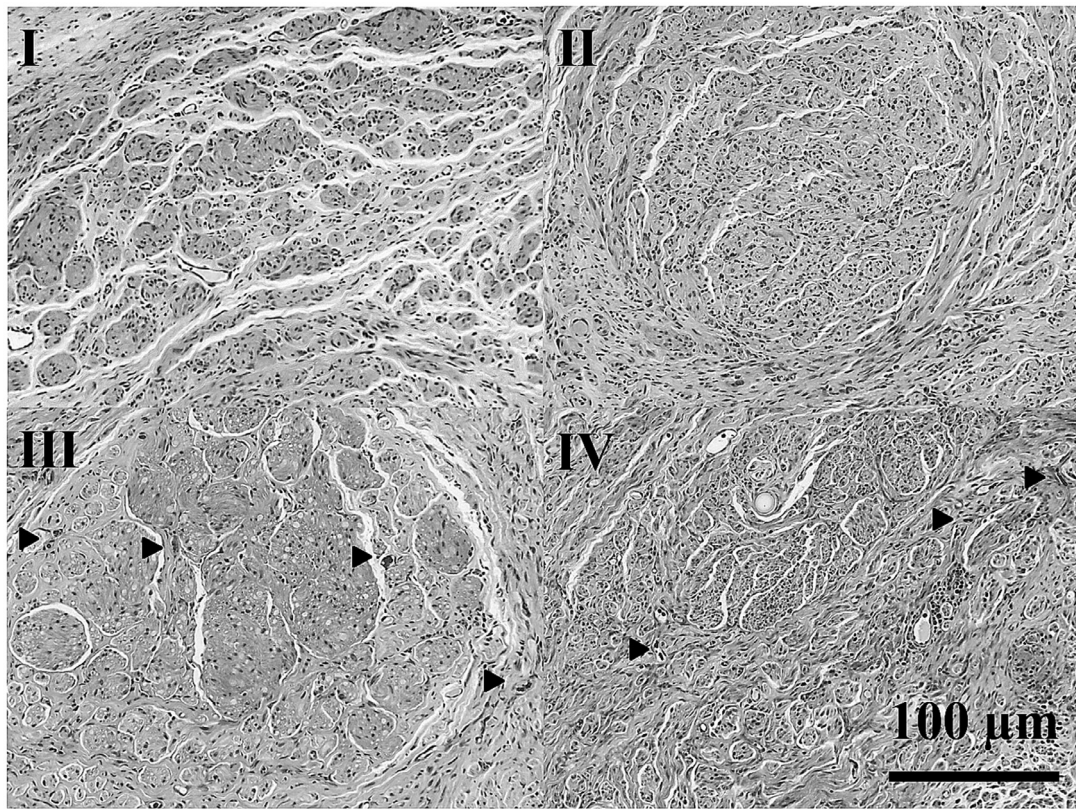


Fig. 3. Pathological findings after 8 weeks: Hematoxylin-Eosin staining

Regenerated tissues were closely observed in the order of group IV, III, II, I. Regenerated blood vessels (arrowhead) were found in group III and IV.

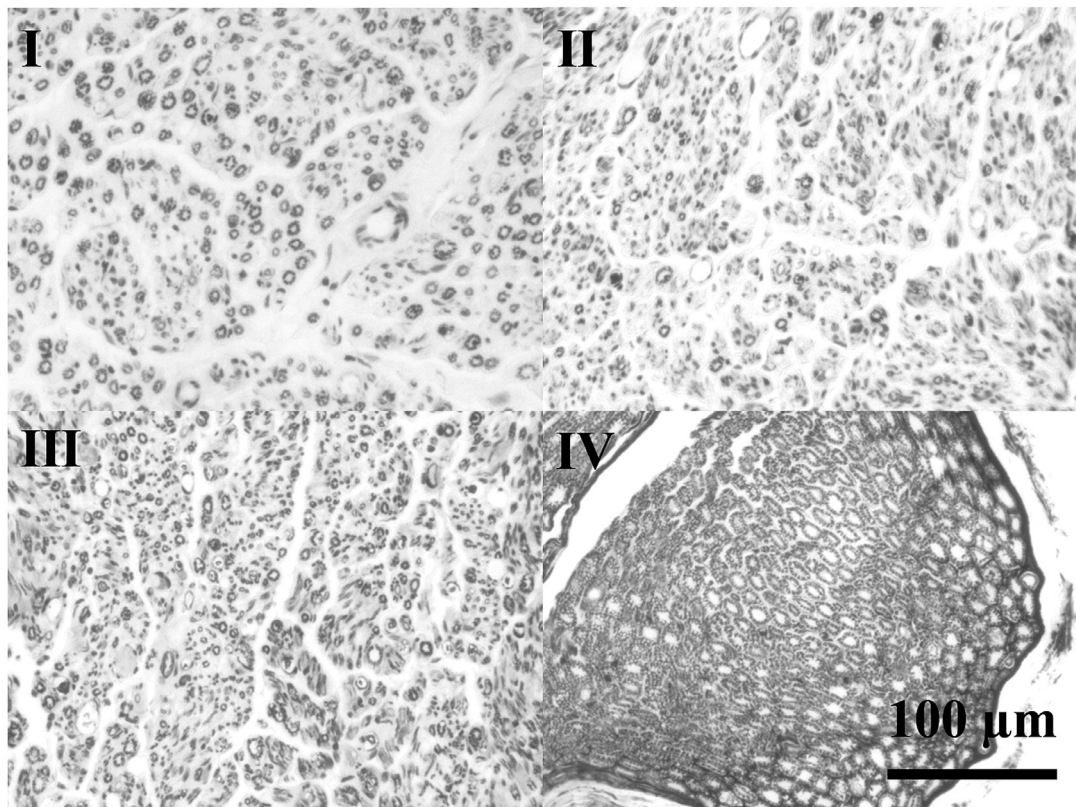


Fig. 4. Pathological findings after 8 weeks: Kluver-Barrera staining

Regenerated nerve fibers and myelin sheath were closely observed in the order of group IV, III, II, I.

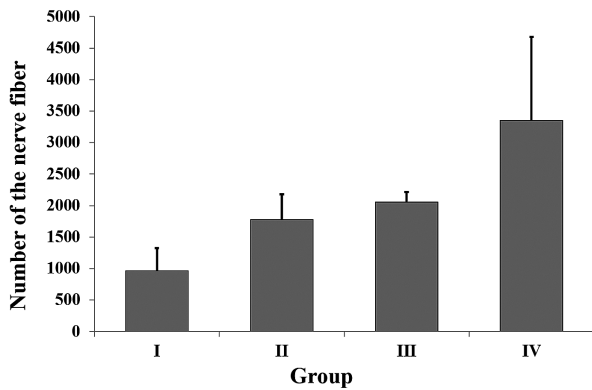


Fig. 5. Number of the nerve fiber number after 4 weeks
Regenerated nerve fibers were observed in the order of group IV, III, II, I.

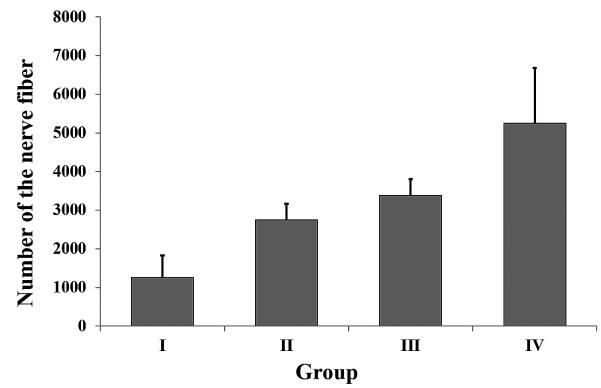


Fig. 6. Number of the nerve fiber after 8 weeks
Regenerated nerve fibers were observed in the order of group IV, III, II, I.

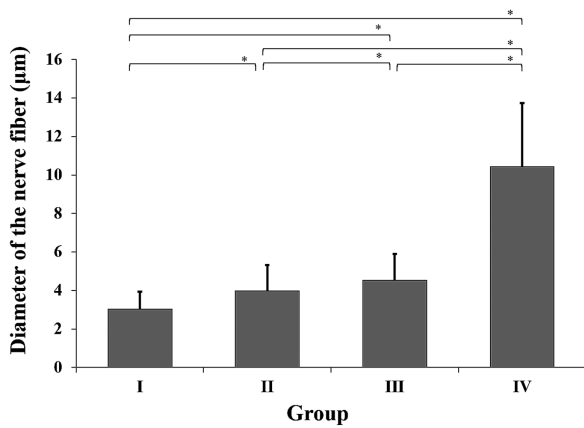


Fig. 7. Diameter of the nerve fiber after 4 weeks
Diameter of the nerve fiber was thickened in the order of group IV, III, II, I. And there were significant differences in each groups. (* $p < 0.01$)

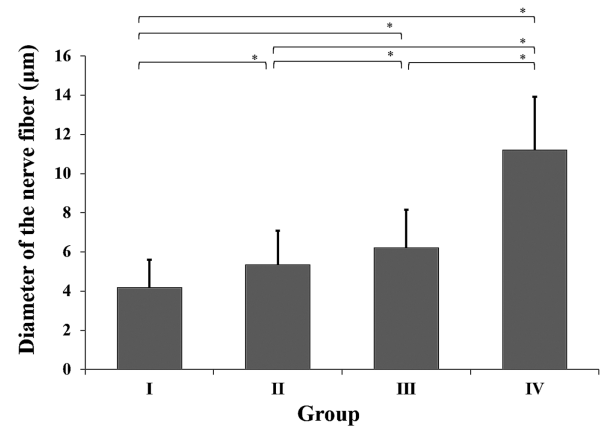


Fig. 8. Diameter of the nerve fiber after 8 weeks
Diameter of the nerve fiber was thickened in the order of group IV, III, II, I. And there were significant differences in each groups. (* $p < 0.01$)

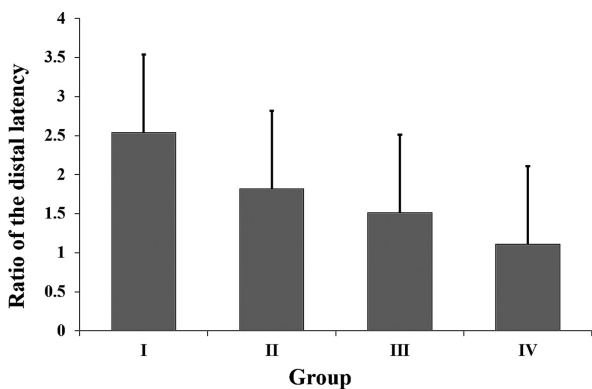


Fig. 9. Ratio of the distal latency after 8 weeks
Ratio of the distal latency was high in the order of group IV, III, II, I.

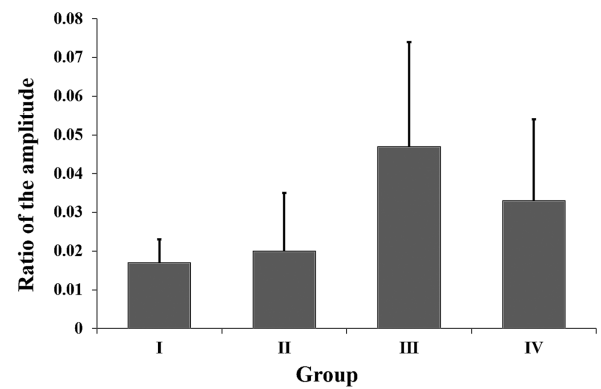


Fig. 10. Ratio of the amplitude after 8 weeks
Ratio of the amplitude was high in the order of group IV, III, II, I.

する可能性を示唆している。

人工神経の研究に関しては、前述の如く管腔物の材質や封入物に関して様々な検討が行われてきた。管腔物については当初、異物反応の少ないシリコン⁷⁾やポリエチレンが用いられたが、これらには生体吸収性が無いために、再生組織と周囲組織とが隔絶され十分な神経の再生が認められなかったことが報告されている⁸⁾。以降、管腔物は生体吸収性を持つことが望ましいと考えられるようになり、コラーゲン⁹⁾や、PGA¹⁰⁾、PLC (Poly-ε-caprolactone)¹¹⁾等を用いたチューブが作成されてきた。その一方で、生体親和性の高さに着目し、筋組織¹²⁾や動静脈¹³⁾などの自己生体材料を管腔物として用いるという研究も行われてきたが、自己生体材料は強度が十分ではなく内腔の閉塞などが問題となっていた。

これらの結果から、適度な強度と生体吸収性を持つ、神経の再生に特化した管腔物である人工神経が開発され、1999年にはPGA製のNeurotube[®]が、2003年にはPLC製のNeurolac[®]が、2005年にはコラーゲン製のNeuraGen[®]がFDAの認可を受け臨床応用された^{14)~16)}。しかしながら、これらの人工神経も素材の硬さの問題や早期に人工神経が吸収される等の問題¹⁷⁾が報告されており、人工神経の素材や性質には依然として検討の余地があると考えられる。なお、本邦では2013年にPGA製のナーブリッジ[®]が、初の人工神経として厚労省に認可された。現在、短期成績ではあるが末梢神経損傷例に対する良好な成績も報告されている¹⁸⁾¹⁹⁾。本研究では、研究内容を臨床応用できることが重要であると考え、既に臨床応用されているナーブリッジ[®]を管腔物として選択した。

管腔物内の封入物に関しては、末梢神経の再生にはシュワン細胞が遊走して形成するシュワン管が必須であることから、シュワン細胞が最も理想的な封入物であると考えられている²⁰⁾。しかし、現在でもシュワン細胞の培養は技術的に困難である。そこで近年は再生医学の進歩に伴い、幹細胞にシュワン細胞としての機能を期待し、管腔内に封入するという研究が行われるようになった。幹細胞の研究においてはES細胞やiPS細胞などの多能性幹細胞が注目されている²¹⁾²²⁾が、これらの幹細胞には倫理的な問題や腫瘍化などの問題があるため、広く臨床応用されるまでには時間を要すると考えられる。一方、我々が選択したADRCsは、安全にかつ大量に採取することが可能な幹細胞であり²³⁾²⁴⁾、臨床応用へのハードルは比較的低い。またADRCsは骨²⁵⁾、筋肉²⁶⁾、腱組織²⁷⁾、椎間板²⁸⁾、血管²⁹⁾などの組織へ幅広く分化することが報告されており、既に虚血性心疾患や³⁰⁾や阻血性潰瘍³¹⁾の治療に臨床応用され、今後も多方面での応用が期待されている。

ADRCsが神経再生を促進する機序としては、ADRCs内に豊富に含まれるADSCsが主たる役割を担っていると考えられており、Kinghamら³²⁾はADSCsがシュワン類似細胞に分化し、シュワン細胞として機能することにより神経再生が促進されたと報告している。また、Xuら³³⁾は

ADSCsから分化したシュワン類似細胞がVEGF (vascular endothelial growth factor) やEGF (epidermal growth factor) など各種の成長因子を放出することにより神経再生が促進されたと報告している。また、Magnaghiら³⁴⁾はADSCsから分化したシュワン類似細胞が放出した神経伝達物質であるGABA type1, type2により、再生軸索の髄鞘化が促進されたと報告している。

本研究に先立ち当科のSuganumaら³⁵⁾は、ADRCsがVEGFやneureglin-1などの成長因子を放出することでシュワン細胞の遊走を促進させ、末梢神経の再生を促進したことを報告しており、本研究で認められたADRCsの神経再生能もこれらの成長因子が関与している可能性が高いと考えられる。その他、ADSCsが有する多様な分化能が血管の新生を促進した可能性なども推察されるが、詳細な機序については今後もさらなる検討が必要である。

神経の再生をより促すためには、ADRCsに操作を加えずに用いるべきなのか、それともADRCsからADSCsを抽出、培養した上で用いるべきなのか、またはADSCsに分化誘導を加えて用いるべきなのか、現在も議論が続いている。Di Summaら³⁶⁾はADSCsをシュワン類似細胞へ分化させることで良好な成績が得られたと報告しているが、その一方で、Obeyら³⁷⁾は非分化型ADSCsと分化型ADSCsの成績には有意差を認めなかったと報告している。我々は臨床応用へのハードルを下げるため、体外での培養や分化誘導を行わないADRCsを封入物として用いた。しかし、本研究で作成したADRCsを封入した人工神経の成績は、自家神経移植群には及んでいないと考えられた。さらに成績を向上させるため、今後の研究では移植細胞数を増やすことや、ADRCsに培養や分化誘導を加えることも検討していきたい。

本研究のlimitationは、ADRCsがどのような機序で神経の再生に寄与していたのか、詳細な検討が行えていない点である。また、再生組織内の新生血管について定量的な評価を行えていない点も本研究のlimitationであり、今後の検討課題としたい。

結 論

ナーブリッジ[®]にADRCsを封入した人工神経は、自家神経移植には及ばなかったものの、シリコンチューブ単体およびナーブリッジ[®]単体と比較し、末梢神経再生を促す効果があった。

謝 辞

本研究を進行するにあたり、御指導を頂きました整形外科教室土屋弘行教授に感謝申し上げます。また、日常の議論を通じ多くの知識や示唆を頂きました整形外科教室の皆様も感謝申し上げます。

文 献

- 1) Millesi H, Meissl G, Berger A. The Interfascicular nerve-grafting of the median and ulnar nerves. J Bone Joint Surg Am 54: 727-750, 1972

- 2) Lundborg G, Dahlin L, Danilsen N. Nerve regeneration in silicon chambers : influence of gap length and of distal stump components. *Exp Neurol* 76: 361-375, 1982
- 3) Zuk PA, Zhu M, Ashjian P. Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells. *Mol Biol Cell* 13: 4279-4295, 2002
- 4) Aust L, Devlin B, Foster SJ. Yield of human adipose-derived adult stem cells from liposuction aspirates. *Cytotherapy* 6: 7-14, 2004
- 5) Zimmermann M. Ethical guidelines for investigations of experimental pain in conscious animals. *Pain* 16: 109-110, 1983
- 6) 伏見滋子, 東 靖人, 調 輝夫, マウス末梢神経発達における組織学的, 形態計測的研究. *川崎医学会誌* 14: 530-538, 1998
- 7) Lundborg G, Dahlin LB, Danilsen N. Nerve regeneration in silicon chambers : influence of gap length and of distal stump components. *Exp Neurol* 76: 361-375, 1982
- 8) Fields RD, Le Beau JM, Longo FM. Nerve regeneration through artificial tubular implants. *Prog Neurobiol* 33: 87-134, 1989
- 9) Archibald SJ, Kraup C, Shefner J. A collagen-based nerve guide conduit for peripheral nerve repair : an electrophysiological study of nerve regeneration in rodents and non-human primates. *J Comp Neurol* 306: 685-696, 1991
- 10) Kiyotani T, Teramachi M, Takimoto Y. Nerve regeneration across a 25-mm gap bridged by a polyglycolic acid-collagen tube : a histological and electrophysiological evaluation of regenerated nerves. *Brain Res* 740: 66-74, 1996
- 11) Navarro X, Rodriguez FJ, Labrador RO. Peripheral nerve regeneration through bioresorbable and durable nerve guides. *J Peripheral Nerv Syst* 1: 53-64, 1996
- 12) Calder JS, Green CJ. Nerve-muscle sandwich grafts : the importance of Schwann cells in peripheral nerve regeneration through muscle basal lamina conduits. *J Hand Surg Br* 20: 423-428, 1995
- 13) Stauch B, Ferder M, Lovelle-Allen S. Determining the maximal length of a vein conduit used as an interposition graft for nerve regeneration. *J Reconstr Microsurg* 12: 521-527, 1996
- 14) Weber RA. A randomized prospective study of polyglycolic acid conduits for digital nerve reconstruction in humans. *Plast Reconstr Surg* 106: 1036-1048, 2000
- 15) Bertleff MJ, Meek MF, Nicolai JP. A prospective clinical evaluation of biodegradable neurolac nerve guides for sensory nerve repair in the hand. *J Hand Surg Am* 30: 513-518, 2005
- 16) Wangenstein KJ, Kalliainen LK. Collagen tube in peripheral nerve repair: a retrospective analysis. *Hand (NY)* 5: 273-277, 2010
- 17) Lohmeyer JA, Siemers F, Machens HG. The clinical use of artificial nerve conduits for digital nerve repair: a prospective cohort study and literature review. *J Reconstr Microsurg* 25: 55-61, 2009
- 18) 関 征央, 東野琢也, 平井林太郎, 神経再生誘導チューブにより再建した正中神経縫合術後断絶の1例-Preliminary Report (第1報). *聖マリアンナ医科大学雑誌* 42: 149-155, 2014
- 19) 小川 光, 小島哲夫, 溝口知行, 神経再生誘導チューブ (ナープリッジ®) の使用経験. *整形外科と災害外科* 64: 552-554, 2015
- 20) Ikeda K, Oda Y, Nakanishi I. Cultured Schwann cells transplanted between nerve gaps promote nerve regeneration. *Neuro-Orthopedics* 11: 7-16, 1991
- 21) Evans MJ, Kaufman MH. Establishment in culture of pluripotent cells from mouse embryos. *Nature* 292: 154-156, 1981
- 22) Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell* 131: 861-872, 2007
- 23) Stream BM, Hicok KC, Zhu M. Multipotential differentiation of adipose tissue-derived stem cells. *Keio J Med* 54: 132-141, 2005
- 24) Fraser JK, Zhu M, Wulur I. Adipose-derived stem cells. *Methods Mol Biol* 449: 59-67, 2008
- 25) Nomura I, Watanabe K, Matsubara H. Uncultured autogenous adipose-derived regenerative cells promote bone formation during distraction osteogenesis in rats. *Clin Orthop Relat Res* 472: 3798-3806, 2014
- 26) Mori R, Kamei N, Okawa S. Promotion of skeletal muscle repair in rat skeletal muscle injury model by local injection of human adipose tissue-derived regenerative cells. *J Tissue Eng Regen Med* 9: 1150-1160, 2015
- 27) Kosaka M, Nakase J, Hayashi K. Adipose-Derived Regenerative Cells Promote Tendon-Bone Healing in a Rabbit Model. *Arthroscopy* 32: 851-859, 2016
- 28) Ganey T, Hutton WC, Moseley T. Intervertebral disc repair using adipose tissue-derived stem and regenerative cells: experiments in a canine model. *Spine* 34: 2297-2304, 2009
- 29) Harada Y, Yamamoto Y, Tsujimoto S. Transplantation of freshly isolated adipose tissue-derived regenerative cells enhances angiogenesis in a murine model of hind limb ischemia. *Biomed Res* 34: 23-29, 2013
- 30) Perin EC, Sanz-Ruiz R, Sánchez PL. Adipose-derived regenerative cells in patients with ischemic cardiomyopathy: The PRECISE Trial. *Am Heart J* 168: 88-95, 2014
- 31) Marino G, Maraci M, Armenia E. Therapy with autologous adipose-derived regenerative cells for the care of chronic ulcer in lower limbs in patients with peripheral arterial disease. *J Surg Res* 185: 36-44, 2013
- 32) Kingham PJ, Kalbermatten DF, Mahay D. Adipose-derived stem cells differentiate into a Schwann cell phenotype and promote neurite outgrowth in vitro. *Exp Neurol* 207: 267-274, 2007
- 33) Xu Y, Liu L, Li Y. Myelin-forming ability of Schwann cell-like cells induced from rat adipose-derived stem cells in vitro. *Brain Res* 1239: 49-55, 2008
- 34) Magnaghi V, Ballabio M, Cavarretta IT. GABAB receptors in Schwann cells influence proliferation and myelin protein expression. *Eur J Neurosci* 19: 2641-2649, 2004
- 35) Suganuma S, Tada K, Hayashi K. Uncultured adipose-derived regenerative cells promote peripheral nerve regeneration. *J Orthop Sci* 18: 145-151, 2013
- 36) Di Summa PG, Kingham PJ, Raffoul W. Adipose-derived stem cells enhance peripheral nerve regeneration. *J Plast Reconstr Aesthet Surg* 63: 1544-1552, 2010
- 37) Orbey H, Uysal AC, Hyakusoku H. Differentiated and undifferentiated adipose-derived stem cells improve function in rats with peripheral nerve gaps. *J Plast Reconstr Aesthet Surg* 65: 657-664, 2012

Artificial nerve graft using adipose-derived regenerative cells promotes peripheral nerve regeneration Syunro Okamoto, Department of Orthopaedic Surgery, Graduate School of Medical Science, Kanazawa University, Kanazawa 920-6840, Pediatrics. Jusen Med. Soc., **127**, 2 – 9 (2018)

Key words Adipose-derived regenerative cells, Artificial nerve graft, Peripheral nerve, Regeneration

Abstract

Recently, great progress has been made in the development of stem cell-containing artificial nerve grafts. The present study evaluated the feasibility of an artificial nerve graft containing adipose-derived regenerative cells (ADRCs) for clinical application and examined its short-term results in Japanese white rabbit. In this model, the right sciatic nerve was excised, and a 15 mm gap was bridged by lumen material (3.5 mm). The animals were divided into four groups according to the type of lumen and enclosed material: group I, silicon tube and saline; group II, artificial nerve graft and saline; group III, artificial nerve graft and ADRCs; and group IV, autologous nerve graft (n = 5). The macroscopic, pathological, and electrophysiological findings were subsequently evaluated at 4 weeks and 8 weeks postoperatively. The macroscopic findings revealed that the lumina of group I contained less material than those of groups II, III, and IV. The pathological findings indicated a higher prevalence of myelinated fibers in groups II, III, and IV than in group I, which was the most prominent in group IV. The prevalence of myelinated fibers increased in the following order: groups I, II, III, and IV; significant differences were observed among the groups. The electrophysiological findings showed good results in groups III and IV; however, there was no significant difference between groups. The results revealed nerve regeneration by ADRCs. Therefore, the artificial nerve graft containing ADRCs is effective in promoting nerve regeneration, but not as effective as an autologous nerve graft.